

Aus der Arbeitsgruppe für perinatale Medizin der Freien
Universität Berlin (Leiter: Professor Dr. E. S a l i n g)
an der Frauenklinik des Städtischen Krankenhauses am
Mariendorfer Weg

Ärztlicher Direktor: Dr. E. J u n g

Die Wasserstoffionenkonzentration im Blutplasma
und im Innern der roten Blutkörperchen des Neu-
geborenen bei Azidosen und nach Medikation von
Puffersubstanzen

Inaugural - Dissertation
zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jürgen Kegel
aus Berlin

1971

Aus der Arbeitsgruppe für perinatale Medizin der Freien
Universität Berlin (Leiter: Professor Dr. E. S a l i n g)
an der Frauenklinik des Städtischen Krankenhauses am
Mariendorfer Weg

Ärztlicher Direktor: Dr. E. J u n g

Die Wasserstoffionenkonzentration im Blutplasma
und im Innern der roten Blutkörperchen des Neu-
geborenen bei Azidosen und nach Medikation von
Puffersubstanzen

Inaugural - Dissertation
zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jürgen Kegel
aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. Erich S a l i n g

Korreferent: Professor Dr.med.Dr. rer.nat.Ernst S c h ü t t e



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 19. Oktober 1971

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. EINLEITUNG	3
B. LITERATURÜBERSICHT	4
1. Der intraerythrozytäre pH-Wert, ge- messen mit verschiedenen Methoden ...	4
2. Der intraerythrozytäre pH-Wert bei Azidosen und Alkalosen	6
3. Die kindliche Azidose	8
4. Die Behandlung der Azidose beim Neu- geborenen	9
C. FRAGESTELLUNG	13
D. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	14
Methodik	14
E. ERGEBNISSE	16
F. DISKUSSION	18
1. Vergleich der Methode und Ergebnisse mit den in der Literatur angegebenen	18
2. In der Methode begründete Fehler- quellen	22
3. Der Bohr-Effekt bei metabolischer Azidose und nach Puffermedikation	24
G. ZUSAMMENFASSUNG	26
H. Tabellen und Statistik	28
I. LITERATURVERZEICHNIS	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. EINLEITUNG

Eine Azidose ist eine Störung des Säure-Basen-Gleichgewichtes im Körper, die mit einer Ansäuerung des Blutes - das heißt einer erhöhten Wasserstoffionenkonzentration - verbunden ist. Beim Kind können unter der Geburt durch Einschränkung des Stoffaustausches durch die Plazenta Azidosen auftreten, die sein Leben gefährden. Durch Ansammlung der bei der Zellatmung entstehenden Kohlensäure kommt es zu einer respiratorischen Azidose, durch vermehrte Bildung von Milchsäure zu einer metabolischen Azidose. Zur medikamentösen Behandlung azidotischer Neugeborener verwendet man unter anderem Puffersubstanzen, die die Konzentration der Wasserstoffionen reduzieren. Zur Beurteilung des Schweregrades der Störung mißt man den pH-Wert, die Sauerstoffsättigung oder die O_2 -Spannung und den Kohlendioxiddruck des kindlichen Blutes.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob der pH-Wert des Blutes, der ein Maß für die Wasserstoffionenkonzentration im Blutplasma ist, immer gesetzmäßige Schlüsse auf den pH-Wert im Innern der Erythrozyten erlaubt. Durch das Milieu im Zellinnern der roten Blutkörperchen wird die Affinität des Hämoglobins zu Sauerstoff beeinflusst (17,25,39).

B. L I T E R A T U R Ü B E R S I C H T

1. Der intraerythrozytäre pH-Wert, gemessen mit verschiedenen Methoden

Der intrazelluläre pH-Wert der Erythrozyten Erwachsener ist zuerst von HENDERSON et al. 1931 angegeben worden (16). Aus der Verteilung von chemisch gebundener Kohlensäure zwischen Plasma und Erythrozyten und der Hämoglobinemenge berechneten sie die Formel:

$$\text{pH}_{\text{cell}} = 1,28 + 0,79 \text{ pH}_{\text{serum}}$$

für oxygeniertes Blut. Danach ist zum Beispiel bei einem Serum pH von 7,20 der pH-Wert der Zellen 6,97; bei einem Serum pH von 7,40 der der Zellen 7,13.

DILL et al. haben 1937 den pK-Wert der Kohlensäure in den Erythrozyten bestimmt und dafür den pH-Wert der durch Gefrieren hämolysierten und mit verschiedenen Gasgemischen äquilibrierten Zellmasse in einer von ihnen konstruierten Glaselektrode gemessen (9).

Daraus berechneten DIL et al. mit Hilfe der Henderson-Hasselbalchschen Gleichung:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{(\text{HCO}_3^-)}{(\text{H}_2\text{CO}_3)}$$

die pH-Werte: Serum des arteriellen Blutes pH = 7,400

Erythrozyten des arteriellen Blutes pH = 7,190

Serum des venösen Blutes pH = 7,368

Erythrozyten des venösen Blutes pH = 7,167

(10).

PURCELL et al. haben arterielles Blut gesunder Erwachsener unter anaeroben Bedingungen entnommen, in verschlossenen Spritzen zentrifugiert, die abgetrennten Erythrozyten ohne Luftkontakt in Polyäthylenspritzen gebracht und darin durch Gefrieren hämolysiert. Mit der Glaselektrode wurde dann der pH-Wert im Plasma und im Hämolysat bestimmt. Bei einem mittleren Plasma pH von 7,39 fanden sie einen pH-Wert der Erythrozyten von 7,19. Sie stellten ein geringeres Reaktionsgefälle zwischen Intra- und Extrazellularraum bei niedrigem Plasma pH-Wert fest. Bei ihren Probanden war bei einem Plasma pH von 7,43 das Erythrozyten pH 0,23 E saurer und bei einem Plasma pH von 7,36 die Differenz nur noch 0,15 E (31).

Von BUBNOFF und RIECKER haben venöses Blut gesunder Erwachsener mit Heparin und Natriumfluorid unter Paraffinabschluß bei 37° C zentrifugiert, die Erythrozyten mit Äther hämolysiert und den pH-Wert beider Medien mit der Mikroglaselektrode gemessen. Sie fanden bei einem mittleren Plasma pH von 7,39 einen Erythrozyten pH von 7,27. Auch sie bemerkten geringere Differenzen im saueren Plasma und stellten die Beziehung zwischen Reaktionsgefälle und Plasma pH graphisch dar (5).

BROMBERG et al. verglichen drei verschiedene Methoden zur Bestimmung des intraerythrozytären pH Wertes miteinander. Bei einem einheitlichen Plasma pH von 7,44

erhielten sie im Erwachsenenblut:

- a) durch Berechnung aus der Verteilung der schwachen Säure DMO (5,5-dimethyl-2,4 oxazolidin) als Indikatorsubstanz, einen Zell pH-Wert von $7,13 \pm 0,03$
- b) berechnet nach der Chloridverteilung zwischen Zellen und Plasma, einen Zell pH-Wert von $7,25 \pm 0,03$
- c) mit der Mikroglaselektrode in den kältehämolysierten Erythrozyten gemessen, einen Zell pH von $7,15 \pm 0,05$. (4).

HILPERT et al. haben den pH-Wert der Erythrozyten Erwachsener, Neugeborener und verschiedener Tierarten bestimmt. Die Blutproben wurden mit Heparin, Kaliumoxalat und Natriumfluorid versetzt, in einen PVC-Schlauch übertragen, die Erythrozyten abgetrennt und durch Gefrieren hämolysiert. Die Abhängigkeit des Erythrozyten pH vom Plasma pH haben sie durch die Formel

$$\text{pH}_{\text{zell.}} = 0,796 (\text{pH}_{\text{Blut}} + 1,644)$$

ausgedrückt. Sie gilt für Erwachsene und Neugeborene bei 50 %iger Sauerstoffsättigung. Danach ist bei einem pH-Wert im Plasma von 7,40 der pH-Wert der Erythrozyten 7,20 (17).

2. Der intraerythrozytäre pH-Wert bei Azidosen und Alkalosen

Von BUBNOFF und RIECKER imitierten in vitro metabolische und respiratorische Azidosen durch Zusatz

von 3,0 %iger Milchsäurelösung und durch Äquilibrieren mit einem Gasgemisch von 5,5 - 9,7 % CO_2 Gehalt. Sie stellten ein schnelles Absinken auch des intrazellulären pH-Wertes bei hohem CO_2 Partialdruck fest, jedoch wurde durch Milchsäure zunächst das Plasma viel stärker angesäuert als das Zellinnere. Nach 15 min war sogar das Plasma saurer als das Hämolyt. Auch im Verlauf einer Stunde trat kein normales Reaktionsgefälle wieder auf. Dies erklären sie mit einer erschwerten Membranpermeation für Milchsäure. Eine Alkalose durch Zusatz von 5 %iger Natriumbikarbonatlösung wirkte sich zunächst nur auf Extrazellularraum aus. Erst innerhalb einer Stunde wurde auch der pH-Wert des Hämolytates auf ein fast wieder normales Niveau angehoben (5).

BROMBERG et al. erzeugten bei gesunden Versuchspersonen in vivo experimentell respiratorische Azidosen und Alkalosen und durch Infusion von Natriumbikarbonat metabolische Alkalosen. Sie beobachteten mit drei verschiedenen Bestimmungsmethoden immer "pH-Veränderungen von ähnlicher Richtung und Größe in den Erythrozyten und Plasma" (4). Für ihre Messungen im Bereich von pH 6,90 - 7,70 äquilibrierten HILPERT et al. das Blut mit einem Gasgemisch, das einen entsprechenden Prozentsatz CO_2 enthielt. Sie haben also respiratorische Azidosen und Alkalosen in vitro untersucht. Das Reaktionsgefälle zwischen Intra- und Extrazellularraum verhielt sich dabei wie

in ihrer Formel angegeben (17).

DE COSTER et al. nehmen an, daß die Permeabilität der Erythrozyten für Laktat schlechter sei als für andere Anionen wie Chlorid und Bikarbonat. Sie haben den Milchsäuregehalt von Plasma und abgetrennten Erythrozyten bei Versuchspersonen vor und nach Muskelarbeit nach der Methode von Barker und Summerson bestimmt, aber keine pH-Werte gemessen.

Der Milchsäuregehalt (in mg/100 ml) war im Plasma 2,24 mal so hoch wie in den Erythrozyten (8).

3. Die kindliche Azidose

Durch die Geburt kommt es bei einer Reihe von Neugeborenen zu einer mehr oder minder ausgeprägten Hypoxie und Azidose, deren Schwere von der Einschränkung des diaplazentaren Gasaustausches unter der Geburt und vom Einsetzen der Atmung nach der Geburt abhängt. Bei schweren Komplikationen dieser Art tritt zu der primären respiratorischen Azidose durch Ansammlung von CO_2 eine sekundäre metabolische Azidose durch Milchsäurebildung hinzu (20).

Auf eine schleichend abnehmende O_2 -Zufuhr reagiert der Fet mit einer Zentralisation des Kreislaufes im Sinne einer O_2 -Sparschaltung (35). Es kommt zu einer Vaskonstriktion in verschiedenen Organen wie Haut, Muskulatur, Lunge und Darm. In diesen Gebieten entwickelt sich daher eine lokalisierte Hypoxie. Dort stellt sich der Stoffwechsel auf die anaerobe Glykolyse um. Es

entsteht dabei eine primäre metabolische Azidose, bei der durch den gedrosselten O_2 Verbrauch die Blutgasverhältnisse im zentralen Kreislauf noch lange Zeit im Normbereich liegen (35).

Die metabolische Azidose verstärkt sich nach der Geburt. JAMES sowie FISCHER und TOUSSAINT beobachteten ein Absinken des Pufferbasengehaltes im kindlichen Blut in den ersten 5-10 Minuten nach der Geburt auch dann, wenn die Lungenfunktion gut in Gang kam. Dies wird durch eine Eröffnung der peripheren Strombahn und ein Einschwemmen von Milchsäure in das zirkulierende Blutvolumen erklärt (19,12).

4. Die Behandlung der Azidose beim Neugeborenen

Die kausale Therapie der pathologischen Blutgasverhältnisse ist eine sofort nach der Geburt beginnende ausreichende Beatmung des Neugeborenen. Da beim Kind in der Asphyxie beziehungsweise im Depressionszustand aber immer auch eine metabolische Azidose vorliegt, erscheint es sinnvoll zur Bindung der überschüssigen Wasserstoffionen Puffer zu infundieren, um den erniedrigten pH-Wert schnell zu heben.

DAWES et al. haben im Tierexperiment bei neugeborenen Rhesusaffen mit einer Asphyxie histologisch Veränderungen im ZNS ähnlich den Schäden bei menschlichen Neugeborenen beobachtet. Bei asphyktischen Tieren, die mit $NaHCO_3$ oder Trispuffer behandelt wurden, war kein

Hirnschaden beobachtet worden (7).

USHER hat 1959 damit begonnen, Frühgeborene mit Atemstörungen (respiratory distress syndrome), bei denen er eine metabolische Azidose beobachtet hatte, mit Natriumbikarbonat zu behandeln. Er infundierte mit gutem Erfolg eine Lösung von Glukose und NaHCO_3 (37).

Nach GUPTA et al., JARRE et al., SALING und EWERBECK hat Trispuffer bei der Behandlung von Neugeborenen wesentliche Vorzüge gegenüber Natriumbikarbonat. Der Aminpuffer Tris (hydroxymethyl)-aminomethan oder THAM ist eine schwache Base und kann Wasserstoffionen nach der Formel



binden, ohne daß dabei CO_2 frei wird, wie bei der Pufferung durch Bikarbonat. Trispuffer enthält kein Natrium und belastet deswegen nicht die Niere des Neugeborenen. Er wirkt auch innerhalb kurzer Zeit im Intrazellularraum und kann somit die Azidose in den gefährdeten Zellen beseitigen (11,14,21,34).

SALING empfiehlt, Kindern, bei denen durch Mikroblutuntersuchungen schon unter der Geburt deutlich reduzierte pH-Werte gemessen worden sind, sofort post partum Trispuffer und Glukoselösung in die Nabelschnurvene zu injizieren, um dann bei adäquater Beatmung eine kontrollierte Behandlung der Störung des Säure-Basenhaushaltes vorzunehmen (34).

Die intrazelluläre Wirkung von Bikarbonat und Trispuffer ist bisher nur auf indirekte Weise gemessen worden. ROBIN et al. haben die Wirkung von NaHCO_3 und Trispuffer auf das intrazelluläre pH verglichen. Sie haben im Tierversuch den pH-Wert auf indirekte Weise anhand der Verteilung von DMO (5,5-dimethyl-2,4-oxazolidinedione) im Intra- und Extrazellularraum berechnet. Sie stellten fest, daß NaHCO_3 im Gegensatz zu Trispuffer nicht innerhalb der Zellen wirkt. Eine Stunde nach Trispuffer Medikation entsprach einem Anstieg des extrazellulären pH von 7,34 auf 7,47 eine Hebung des intrazellulären pH von 7,08 auf 7,27. Nach Gabe von NaHCO_3 war eine Hebung des extrazellulären pH von 7,30 auf 7,58 nur von einem Anstieg des intrazellulären pH von 7,04 auf 7,07 begleitet (33).

OMACHI et al. haben den Eintritt von Trispuffer in Erythrozyten gemessen. Sie bestimmten die Schwellung der Zellen in trispufferhaltigen Lösungen durch das dem Puffer nachfolgende Wasser, indem sie die optische Dichte der Erythrozytensuspension, die bei konstanter Teilchenzahl von der Teilchengröße abhängt, gemessen haben. Danach ist die Eindringgeschwindigkeit bei hohen pH-Werten (7,8) beträchtlich größer als bei niedrigen pH-Werten (6,6). Dies wird erklärt durch den größeren Anteil an unionisiertem Trispuffer bei höheren pH-Werten (28).

HOLMDAHL und NAHAS haben die Verteilung von C^{14} mar-

kiertem Trispuffer zwischen Plasma und Erythrozyten gemessen und nach 30-60 min ein Eindringen in die Zellen beobachtet. Nach 5 Stunden stellten sie ein Verteilungsgleichgewicht fest (18).

NAHAS vergleicht die beiden Substanzen NaHCO_3 und Trispuffer in ihrem Wert bei der Behandlung von Atemversagen. Als Nachteil der NaHCO_3 Medikation erwähnt er den Anstieg des extrazellulären pCO_2 . Damit steigt auch der pCO_2 und fällt der pH-Wert in den Zellen, wenn nicht gleichzeitig die Abatmung von CO_2 beschleunigt wird. Trispuffer dagegen senkt den extrazellulären pCO_2 . Damit ist er in der Lage, den intrazellulären pH-Wert zu heben. Aber der pharmakologische atemdepressive Effekt des Trispuffers wirkt sich nachteilig auf den pCO_2 aus. Ferner mindert die intrazelluläre Wirksamkeit die Tatsache, daß Trispuffer sich erst nach sechs Stunden im gesamten Körperwasser verteilt hat und 70 % der applizierten Menge in drei Stunden bereits wieder über die Nieren ausgeschieden werden. Er empfiehlt eine Mischung von 50 % 0,2 molarer Trispufferlösung und 50 % 0,15 molarer NaHCO_3 Lösung, die nur eine sehr geringe Atemdepression verursacht. Auch soll man nur so viel Trispuffer geben, daß die Azidose beseitigt wird, aber keine Alkalose entsteht (27).

BLEICH und SCHWARTZ schlagen vor, weiterhin NaHCO_3 zur Therapie respiratorischer und metabolischer Azidosen zu verwenden, da Trispuffer verschiedene Nachteile

hat: a) Trispuffer hat einen atemdepressiven Effekt. b) Bei pH 7,4 verbindet sich nur $\frac{3}{4}$ der Menge mit einem Proton. c) Eine schnellere Hebung des intrazellulären pH als sie mit NaHCO_3 erreicht werden kann, sei von fraglichem Wert. d) Da eine 0,3 molare Lösung von Trispuffer einen pH-Wert von 10,2 hat, verursacht sie Gewebnekrosen, wenn sie paravenös gespritzt wird. e) Falls TrisH^+ mit HCO_3^- als Anion ausgeschieden wird, hat es keinen Effekt auf die Bikarbonatkonzentration im Plasma (2).

C. F R A G E S T E L L U N G

Nach dem Studium der Literatur ergaben sich für unsere Untersuchungen folgende Fragen:

1. Wie verhält sich der pH-Wert im Innern der Erythrozyten Neugeborener bei metabolischen Azidosen, imitiert durch Milchsäurezusatz zum Blut?
2. Welche Wirkung haben Trispuffer und NaHCO_3 auf den intraerythrozytären pH-Wert des Neugeborenenblutes?

D. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Methodik

Das Blut für unsere Messungen wurde unmittelbar nach komplikationslosen Geburten aus der Vene der Nabelschnur entnommen. Um die Gerinnung zu verhindern, war in die Kunststoffspritzen für 20 ml Blut zuvor 1 ml Vetren^(R) = 100 IE Heparin aufgezogen worden.

Um den pH-Wert der Erythrozyten zu messen, wurde für eine Versuchsreihe das Blut nicht weiter behandelt und über ein kurzes Stück Schlauch in Glaskapillaren von 1 mm Innendurchmesser und 200 mm Länge gespritzt. Dabei kam das Blut nur im Spritzenkonus und an der Front der Säule in der Kapillare an einer Fläche von 1 mm Durchmesser für eine Zeit von 4 Sekunden oder weniger mit der Außenluft in Berührung. Der erste Teil des Blutes, der die Luft aus der Kapillare verdrängt hatte, wurde dabei ausgespritzt und nicht verwertet. Beide Enden der Kapillare wurden mit Gummikappen fest verschlossen und im Zentrifugenthermostaten bei 37° C in 5 Minuten die Erythrozyten vom Plasma getrennt. Dann wurde die Kapillare im oberen Teil der Zellsäule durchgebrochen und beide Hälften wieder verschlossen. Die Erythrozyten wurden hämolysiert, indem wir das mit Zellen gefüllte Stück in Methylalkohol mit Trockeneis auf - 70° C abgekühlt und anschließend wieder in warmem Wasser erwärmt haben. Das Plasma und

das Hämolysat wurden dann ohne Luftkontakt direkt in die Mikroglaselektrode der pH-Meß-Apparatur (SALING und TUROWSKI (35)) geblasen und der pH-Wert in beiden gemessen.

Für die Füllung der Elektrode genügte das mittlere Drittel des Kapillarinhaltes, so daß nur der Teil, der nicht mit Luft in Berührung gekommen war, berücksichtigt wurde.

In einer anderen Meßreihe haben wir Blut im Kugeltonometer nach LAUE (23) mit einem Gasgemisch von 5,6 % CO_2 und 94,4 % O_2 - entsprechend einem CO_2 - Partialdruck von 40 mm Hg - äquilibriert und damit vollständig oxygeniert. Für die Messung des intraerythrozytären pH-Wertes wurde das Blut direkt aus dem Tonometer in die Glaskapillaren aufgezogen und wie oben beschrieben weiterbehandelt (Tabelle 1, Seite 28).

Zur Imitation metabolischer Azidosen in vitro haben wir zu 4 ml Blut, das mit 5,6 % CO_2 + 94,4 % O_2 äquilibriert war, 0,1 oder 0,2 ml einer 1 %igen Lösung von Milchsäure in 0,9 %iger Kochsalzlösung gegeben. 10, 30 und 60 Min. nach diesem Milchsäurezusatz wurde eine Blutprobe aus dem Tonometer entnommen und der pH-Wert im Plasma und im Hämolysat, wie oben beschrieben, gemessen (Tabelle 3, 4 und 5, Seite 29 und 30).

Zur Messung des intraerythrozytären pH-Wertes nach Natriumbikarbonat und Trispufferzugabe haben wir nicht äquilibriertes Blut in verschlossenen Spritzen zunächst

mit Milchsäure angesäuert, um den Verhältnissen, wie sie bei einer kindlichen Azidose vorliegen, möglichst nahe zu kommen. Dazu wurde in eine Spritze die nötige Menge 1 %iger Milchsäurelösung aufgezogen, um den Blut pH auf Werte zwischen 7,0 und 7,1 zu senken und alle Luft entfernt.

Dann wurde diese Spritze mit der Spritze, die das Blut enthielt, über ein Stück Schlauch verbunden und das Blut zur gründlichen Mischung mehrmals von einer Spritze in die andere gedrückt. 30 Min. nach dieser Milchsäurezugabe erfolgte dann der Pufferzusatz auf die gleiche Art.

Zu 2 ml angesäuertem Blut wurden jeweils 0,1 ml oder 0,2 ml einer 0,3 molaren Trispufferlösung oder 0,4 %igen Bikarbonatlösung gegeben und nach 5 Min. und 60 Min. der pH-Wert im Plasma und Hämolytat gemessen.

E. E R G E B N I S S E

Unsere Messungen nach dieser Methode ergaben folgende Resultate:

Der pH-Wert im Innern der Erythrozyten des Nabelschnurvenenblutes Neugeborener ist saurer als der des Plasmas. Er stimmt mit den für Erwachsenenblut in der Literatur angegebenen Werten weitgehend überein.

Er ist vom Plasma-pH nach folgender Formel abhängig, die HILPERT et al. für Erwachsenenblut und Neugeborenenblut bei 50 % Sauerstoffsättigung errechneten (17).

$$\text{pH}_{\text{zell}} = 0,796 (\text{pH}_{\text{plasma}} + 1,644)$$

Im Mittelwert von 20 Messungen wurde der pH-Wert im Zellinnern 0,003 pH (Standardabweichung $S = \pm 0,020$) saurer gefunden - Tabelle 2, Seite 29. Der intraerythrozytäre pH-Wert im Nabelschnurvenenblut, das durch ein CO_2 /Sauerstoffgemisch mit 40 mm Hg CO_2 äquilibriert wurde, hängt nach der gleichen Beziehung vom extrazellulären pH-Wert ab.

Im Mittelwert von 36 Messungen war das Zellinnere ebenfalls 0,003 pH ($S = \pm 0,015$) saurer als der nach HILPERT berechnete pH der Zellen - Tabelle 1, Seite 28. Eine Ansäuerung des Blutes mit Milchsäure bewirkt auch ein schnelles Absinken des intrazellulären pH-Wertes.

10,30 und 60 Min. nach Milchsäurezugabe wurde keine signifikante Änderung des Reaktionsgefälles zwischen Intra- und Extrazellularraum gemessen. Der Mittelwert von 17 Messungen des intrazellulären pH-Wertes war 10 Min. nach dem Milchsäurezusatz nur 0,004 pH alkalischer ($S = \pm 0,016$) als der aus der bei HILPERT angegebenen Formel errechnete Wert - Tabelle 4, Seite 30, 30 Min. danach 0,001 pH alkalischer ($S = \pm 0,020$) und 60 Min. später war es 0,002 pH saurer ($S = \pm 0,018$) - Tabelle 5, Seite 30.

Eine Alkalisierung des Blutes mit Natriumbikarbonat bewirkte eine signifikante Vergrößerung der pH-Wert-Differenz zwischen Intra- und Extrazellularraum, die über eine Stunde anhält. Der Mittelwert von 20 Messungen

des intrazellulären pH-Wertes war 5 Min. nach NaHCO_3 -Zugabe 0,030 pH ($S = \pm 0,017$) saurer - Tabelle 6, Seite 31 - und 60 Min. danach 0,032 pH ($S = \pm 0,019$) saurer - Tabelle 7, Seite 31 - als aus dem Plasma-pH nach HILPERT errechnet.

Eine Alkalisierung des Blutes mit einer isotonen Trispufferlösung bewirkt dagegen eine signifikante Verringerung der pH-Werte-Differenz zwischen Intra- und Extrazellularraum, die im Laufe von 60 Minuten zunimmt. 5 Minuten nach Trispufferzugabe war der Mittelwert von 20 Messungen im Zellinnern 0,024 pH alkalischer.

($S = \pm 0,018$) - Tabelle 8, Seite 32 - und 60 Minuten danach 0,040 pH

($S = \pm 0,014$) alkalischer - Tabelle 9, Seite 32 - als es der Berechnung aus dem pH-Wert des Plasmas nach der bei HILPERT et al. angegebenen Formel entsprach.

Eine Berechnung der Signifikanz erfolgte mit dem t-Test nach Student (13).

F. DISKUSSION

1. Vergleich der Methode und Ergebnisse mit den in der Literatur angegebenen.

Die Methodik der vorliegenden Untersuchung unterscheidet sich wenig von der bei HILPERT et al angegebenen (17). Wir haben alle intrazellulären pH-Werte mit den nach ihrer Formel errechneten Werten verglichen und stellen eine gute Übereinstimmung der Mittelwerte fest.

HILPERT et al. haben ihre Formel für Blut von 50 %iger Sauerstoffsättigung errechnet (17). Eine ähnliche Sauerstoffsättigung liegt im von uns verwandten Blut vor. Nach JAMES und allen fünf von ihm zitierten Autoren beträgt die Sauerstoffsättigung im Nabelschnurvenenblut nach komplikationsloser Spontanentbindung zwischen 48 und 63 % (19).

Natriumfluorid hemmt als Glykolysegift die Bildung von Milchsäure durch die Erythrozyten und verhindert damit die zunehmende Säuerung des Blutes während der Lagerung. Wir haben kein NaF verwandt, da es bei unserer Fragestellung nicht auf die absolute Größe des pH-Wertes ankam, sondern nur auf das Reaktionsgefälle zwischen Plasma und Erythrozyten.

Nach WILBRANDT werden durch Vergiftung des glykolytischen Fermentsystems die Erythrozyten für Kationen permeabel (38). Die zur Erhaltung der Potentialdifferenz notwendige Energie wird im Erythrozyten fast ausschließlich durch anaeroben Stoffwechsel gewonnen, bei dem Milchsäure als Endprodukt entsteht (29). Das entsprechende Enzymsystem scheint in der Zellmembran lokalisiert zu sein (6). Deshalb kann durch das NaF das Reaktionsgefälle eventuell verfälscht werden. Dieser Effekt scheint aber eine zu vernachlässigende Größe zu sein, da unsere Ergebnisse mit denen von HILPERT et al. übereinstimmen.

Wir haben das Blut in Glaskapillaren zentrifugiert und nicht, wie HILPERT et al., in PVC Schläuchen. In Vorversuchen beobachteten wir eine zu breite Streuung der Meßergebnisse, die wir nach KUBLI mit einer Diffusion des

CO₂ in den Kunststoff erklären möchten (21). HILPERT et al. verwandten dickere Schläuche, in denen sie 1 ml zentrifugieren konnten. Daher war bei ihnen das Verhältnis von Blutvolumen zu Plastikoberfläche günstiger, so daß dieser Effekt nicht störte.

Die oben angegebenen Differenzen des pH-Wertes zwischen Intra- und Extrazellularraum stimmen außerdem mit den bei DILL et al. und PURCELL et al. angegebenen Werten gut überein (10,31).

HENDERSON et al. haben eine um 0,076 pH größere Differenz berechnet. Dies ist wohl mit der von ihnen selbst angegebenen Unsicherheit der angewandten Methode zu erklären (16).

BROMBERG et al. haben den intraerythrozytären pH-Wert mit drei verschiedenen Methoden ermittelt. Dabei zeigt nur der aus der Chloridverteilung errechnete Wert eine gute Übereinstimmung mit unseren Messungen (4).

Von BUBNOFF und RIECKER geben einen 0,08 Einheiten alkalischen pH-Wert für den Intrazellularraum an (5). Dies unterschiedliche Ergebnis läßt sich durch die andere Art der Hämolysetechnik erklären. Sie schüttelten das Blut mit Äther und lösten dabei den Lipidanteil der Erythrozytenmembran. Sie haben eine geringere Säuerung der Erythrozyten nach Milchsäurezusatz zum Blut festgestellt als wir sie beobachten konnten. Da man mit Äther Milchsäure aus wässrigen Lösungen ausschütteln kann, ist es denkbar, daß mit dem Äther ein Teil der eingedrungenen Milchsäure wieder aus dem Hämolysat entfernt wurde (5).

Im Gegensatz zu diesen Autoren haben wir eine schnelle Säuerung des Zellinnern nach Milchsäurezusatz gemessen.

Um die intrazelluläre Wasserstoffionenkonzentration zu erhöhen, ist es nicht nötig, daß mit den H^+ Ionen auch die Laktat-Anionen durch die Zellmembran dringen. Es genügt auch ein Austausch der H^+ Ionen gegen andere Kationen wie K^+ und Na^+ aus dem Zellinnern. Einen solchen Austausch im Verhältnis von $\frac{H^+ \text{ ein}}{K^+ \text{ aus}} = \frac{2}{1}$ hat RIECKER beobachtet (32).

So kann es zu einer Säuerung des Zellinnern bei Milchsäureazidose kommen, auch wenn die Zellmembran für Laktat relativ schlecht permeabel und die Laktatkonzentration außen doppelt so hoch wie innen ist, wie DE COSTER et al. feststellten (8).

Wird eine Blutprobe durch eine nichtflüchtige Säure wie z.B. Milchsäure angesäuert, so erhöht sich der CO_2 Partialdruck. Um den Effekt dieses gesteigerten Partialdruckes - eine Erhöhung der intrazellulären Wasserstoffionenkonzentration - auszuschalten, wurde in der vorliegenden Untersuchung der pCO_2 vor und nach der Milchsäurezugabe im Kugeltonometer konstant bei 40 mm Hg gehalten. Zur Messung der normalen pH-Differenz zwischen Intra- und Extrazellularraum im voll oxygenierten Blut bei 40 mm Hg, war zuvor eine Meßreihe ohne Milchsäurezugabe nötig. In diesem Blut und im frisch entnommenen Nabelschnurvenenblut, das ohne Luftkontakt gehalten und nicht äquilibriert wurde, stimmen die Mittelwerte der pH-Differenzen mit denen von HILPERT et al. in ihrer Formel angegeben überein. Dies war nicht zu erwarten, denn die Sauerstoff-

sättigung hat einen Einfluß auf den intraerythrozytären pH-Wert. Da Oxyhämoglobin mehr H^+ Ionen abdissoziiert als reduziertes Hämoglobin, ist der intrazelluläre pH-Wert im oxygenierten Blut niedriger als im reduzierten. Nach den Berechnungen von DILL et al. ist die Differenz zwischen intrazellulärem und extrazellulärem pH-Wert im arteriellen Blut 0,009 pH größer als im venösen Blut Erwachsener (10).

Dieser geringe Unterschied im intra- und extrazellulären Reaktionsgefälle zwischen halb und voll mit O_2 gesättigtem Blut ist bei unserer Meßmethodik nicht erfaßt worden.

2. In der Methode begründete Fehlerquellen

Mit der angegebenen Methode des Zentrifugierens und Hämolysierens mißt man im Hämolysat nicht den exakten mittleren intrazellulären pH-Wert aller zerstörten Erythrozyten, sondern den einer Mischung der Zellmasse und dem im Zentrifugat zwischen den korpuskulären Bestandteilen verbliebenen Plasma. LEESON und REEVE haben proteingebundenes radioaktives Jod zu Kaninchenblut gegeben und anhand der Radioaktivität des Zentrifugates errechnet, daß sich ungefähr 5 % Plasma zwischen den Erythrozyten befinden (24).

Zur Erklärung der Hämolyse durch Abkühlung unter den Gefrierpunkt führt TULLIS drei verschiedene Theorien an. Die Membran der Erythrozyten wird zerstört:

1. durch extrazelluläre Eiskristalle

2. durch hohe Salzkonzentration

3. durch intrazelluläre Eiskristalle

Nach seinen Angaben werden nicht alle Zellen aufgelöst (36). Im Ausstrich unserer Hämolysate konnten wir jedoch keine intakten Zellen mehr nachweisen.

Auf Grund des Plasmafehlers wird man nach Säure- oder Pufferzusatz im Hämolysat einen pH-Wert messen, der um ein geringes saurer oder alkalischer ist, als der eigentliche intrazelluläre pH-Wert, da sich ja im Plasma Säure oder Puffer befinden, die nicht in die Zellen eingedrungen sind. Genaue quantitative Ergebnisse sind deshalb mit dieser Methode nicht zu gewinnen. Entscheidend bleiben aber die Befunde, daß in der Zeit von 10 Minuten bis 60 Minuten nach Milchsäurezusatz keine signifikante Änderung der pH-Wert Differenz zwischen Intra- und Extrazellularraum gemessen wurde. Nach Trispuffer und nach Natriumbikarbonatzugabe konnte aber ein signifikanter Unterschied in ihrer Wirkung auf den intrazellulären pH-Wert festgestellt werden. Durch Trispuffer wird das Zellinnere stärker alkalisiert als durch NaHCO_3 .

3. Der Bohr-Effekt bei metabolischer Azidose und nach

Puffermedikation

Die Sauerstoffaffinität des Blutes ist unter anderem abhängig von seinem pH-Wert, genauer gesagt vom pH-Wert im Zellinnern, der eigentlichen Umgebung des Hämoglobins (17,25,39). Sinkt der pH-Wert, so wird ein höherer Sauerstoffpartialdruck benötigt, um die gleiche Sauerstoffsättigung des Blutes zu erreichen. Dieser Bohr-Effekt spielt beim Erwachsenen normalerweise bei der Sauerstoffübertragung eine geringe Rolle. Der pH-Wert verschiebt sich während des Atemzyklus nur um 0,01 Einheiten (39). Eine verbesserte O₂-Versorgung des Gewebes bei Stoffwechselsteigerung wird vorwiegend durch eine zunehmende Eröffnung von Kapillaren erreicht (1). Beim Neugeborenen im Depressionszustand scheint er jedoch von größerer Wichtigkeit zu sein. Durch die O₂-Sparschaltung des Blutkreislaufes wird azidotisches Gewebe nicht verstärkt kapillarisiert, und der pH-Wert schwankt in einem viel größeren Bereich. Als Grenze des Normalbereiches werden für den aktuellen pH-Wert des Nabelschnurarterienblutes 7,09 und 7,40 angegeben (35).

Nach HELLEGERS und SCHRUEFER hängen im Nabelschnurblut.

pH, p_{O₂} und S_{O₂} nach folgender Formel voneinander ab:

$$\log p_{O_2} = 5,748 - 0,601 \text{ pH} + 0,389 \log \frac{S_{O_2}}{100 - S_{O_2}}$$

Danach ist das Blut bei pH 7,20 unter einem p_{O_2} von 26,3 mm Hg zu 50 % mit Sauerstoff gesättigt, bei einem pH von 7,00 erst unter einem p_{O_2} von 34,8 mm Hg (15). Diese Autoren haben aber den pH-Wert variiert, indem sie das Blut mit verschiedenen CO_2 -Spannungen äquibrierten, und es war fraglich, ob die Formel auch bei metabolischen Azidosen anzuwenden ist. Nach den vorliegenden Messungen wirkt sich eine metabolische Azidose mit hohem Milchsäurespiegel in wenigen Minuten auch auf das Zellinnere aus. Man kann also die gleiche Formel auch bei diesen Zuständen anwenden und den Sauerstoffpartialdruck aus der Sauerstoffsättigung berechnen, wenn der pH-Wert bekannt ist und umgekehrt.

Man erhält dann allerdings keine ganz genauen Werte, denn der CO_2 -Partialdruck hat außer über seine Wirkung auf den pH-Wert auch noch über die verschieden starke Bildung von Carbaamino-Hämoglobin einen geringen Einfluß auf die Sauerstoffaffinität des Blutes (26).

Wird der pH-Wert des Blutes durch Puffermedikation angehoben, so vergrößert sich die Sauerstoffaffinität. Dabei ist es nach unseren Beobachtungen nicht gleichgültig, welche Puffer man verwendet, auch wenn im Endeffekt der gleiche Blut pH-Wert erreicht wird. Natriumbikarbonat dringt schlechter in die Erythrozyten ein als Trispuffer. Deshalb ist seine Wirkung auf die Lage der O_2 -Dissoziationskurve geringer als die von Trispuffer.

Dies ist ein Grund, der für die Behandlung azidotischer Neugeborener mit Trispuffer spricht. Ein gleichsinniges Verhalten von NaHCO_3 und Trispuffer wie in unseren Messungen an Erythrozyten haben ROBIN et al. bei ihren Berechnungen des pH-Wertes des Blutes und aller Körperzellen aus der Verteilung von DMO gefunden(33).

Weitergehende Schlüsse auf die Permeation der Puffersubstanz in die übrigen Körperzellen, besonders in die gefährdeten Zellen des ZNS, sind aus unseren Untersuchungen nicht zu ziehen. Wie PRANKERD bemerkte, unterscheiden sich die Erythrozyten in ihrer Permeabilität von den übrigen Körperzellen schon deshalb, weil sie von einer fast gesättigten Lösung von Hämoglobin ausgefüllt sind (30).

G. Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Wasserstoffionenkonzentration im Plasma und im Zellinnern der Erythrozyten des Nabelschnurblutes wurde getrennt gemessen. Sie ist im Zellinnern größer als im Plasma. Es besteht kein konstantes Reaktionsgefälle zwischen Intra- und Extrazellularraum. Im Nabelschnurblut des Neugeborenen ist der pH-Wert im Zellinnern vom Plasma-pH-Wert nach folgender in der Literatur angegebenen Gleichung abhängig:

$$\text{pH}_{\text{zell}} = 0,796 (\text{pH}_{\text{plasma}} + 1,644)$$

Eine Erniedrigung des pH-Wertes im Blut durch Milchsäure, wie bei einer metabolischen Azidose, bewirkt in weniger als 10 Minuten auch eine Senkung des intraerythrozytären pH-Wertes auf die nach dieser Formel berechnete Höhe.

Hebt man den pH-Wert des Blutes durch Pufferzugabe, so unterscheiden sich Natriumbikarbonat und Trispuffer in ihrer Wirkung auf das Zellinnere. Nach NaHCO_3 ist der Intrazellularraum 0,03 pH Einheiten saurer, nach Trispuffer ist er 0,02 - 0,04 pH Einheiten alkalischer als nach obiger Formel errechnet.

H. TABELLEN UND STATISTIK

Spalte I	:	pH-Wert des abgetrennten Plasmas
" II	:	pH-Wert der hämolysierten Erythrozyten
" III	:	Erythrozyten-pH aus dem Plasma-pH nach der Formel von HILPERT et al. errechnet.
" IV	:	Abweichung des gemessenen Erythrozyten-pH vom errechneten Erythrozyten-pH.

1. Nabelschnurvenenblut mit O₂ und 40 mm Hg CO₂ äquilibriert

I	II	III	IV
7,331	7,130	7,144	0,014 saurer
7,331	7,122	7,144	0,022 sa
7,330	7,140	7,143	0,003 sa
7,320	7,125	7,135	0,010 sa
7,320	7,120	7,135	0,015 sa
7,320	7,120	7,135	0,015 sa
7,310	7,150	7,127	0,023 alkalischer
7,310	7,138	7,127	0,011 al
7,310	7,130	7,127	0,003 al
7,300	7,120	7,119	0,001 al
7,295	7,115	7,115	0,000
7,282	7,120	7,106	0,014 al
7,280	7,080	7,104	0,024 sa
7,277	7,078	7,101	0,013 sa
7,270	7,100	7,095	0,005 al
7,265	7,073	7,088	0,015 sa
7,260	7,093	7,088	0,005 al
7,250	7,078	7,080	0,002 sa
7,250	7,060	7,080	0,020 sa
7,242	7,079	7,074	0,005 al
7,242	7,062	7,074	0,012 sa
7,231	7,050	7,065	0,015 sa
7,230	7,095	7,064	0,031 al
7,230	7,090	7,064	0,026 al
7,222	7,050	7,058	0,008 sa
7,221	7,029	7,057	0,028 sa
7,220	7,070	7,056	0,014 al
7,220	7,060	7,056	0,004 al
7,218	7,038	7,054	0,016 sa
7,215	7,035	7,052	0,017 sa
7,210	7,049	7,048	0,001 al
7,190	7,060	7,032	0,028 al
7,174	7,000	7,020	0,020 sa
7,170	7,000	7,016	0,016 sa
7,145	7,008	6,996	0,012 al
7,145	7,000	6,996	0,004 al

n = 36

M = 0,003 saurer s = $\pm$ 0,015

2. Nicht äquilibriertes Nabelschnurvenenblut

I	II	III	IV
7,470	7,240	7,225	0,015 alkalischer
7,460	7,245	7,247	0,002 saurer
7,430	7,225	7,223	0,002 al
7,400	7,220	7,199	0,021 al
7,390	7,210	7,191	0,019 al
7,380	7,210	7,183	0,027 al
7,380	7,200	7,183	0,017 al
7,375	7,150	7,179	0,029 sa
7,370	7,150	7,175	0,025 sa
7,355	7,140	7,163	0,023 sa
7,340	7,120	7,151	0,031 sa
7,310	7,140	7,127	0,013 sa
7,280	7,100	7,104	0,004 sa
7,275	7,070	7,099	0,029 sa
7,270	7,110	7,095	0,015 al
7,260	7,120	7,088	0,032 al
7,150	6,980	7,000	0,020 sa
7,140	6,970	6,992	0,022 sa
7,120	6,960	6,976	0,016 sa
7,100	6,960	6,960	<u>0,000</u>

n = 20

M = 0,003 saurer s = $\pm$ 0,020

3. Messung 10 Minuten nach Milchsäurezugabe zu äquilibriertem Nabelschnurvenenblut

7,260	7,100	7,088	0,012 al
7,260	7,098	7,088	0,010 al
7,229	7,160	7,063	0,003 sa
7,220	7,168	7,056	0,012 al
7,218	7,055	7,034	0,001 al
7,200	7,035	7,040	0,005 sa
7,160	6,988	7,008	0,020 sa
7,138	6,981	6,990	0,009 sa
7,122	6,998	6,978	0,020 al
7,120	7,008	6,976	0,032 al
7,112	6,965	6,970	0,005 sa
7,111	6,975	6,969	0,006 al
7,088	6,955	6,950	0,005 al
7,060	6,918	6,928	0,010 sa
7,038	6,940	6,910	0,030 al
7,019	6,868	6,895	0,027 sa
6,981	6,884	6,866	<u>0,018 al</u>

n = 17

M = 0,004 alkalischer s = $\pm$ 0,01

4. Messung 30 Minuten nach Milchsäurezugabe zu
äquiliertem Nabelschnurvenenblut

I	II	III	IV
7,238	7,065	7,070	0,005 saurer
7,230	7,092	7,064	0,028 alkalischer
7,210	7,010	7,048	0,038 sa
7,200	7,055	7,040	0,015 al
7,182	7,020	7,026	0,006 sa
7,172	7,045	7,018	0,027 al
7,145	6,995	6,996	0,001 sa
7,122	6,940	6,978	0,038 sa
7,120	7,000	6,976	0,024 al
7,115	6,960	6,972	0,012 sa
7,115	6,955	6,972	0,017 sa
7,100	6,970	6,960	0,010 al
7,060	6,920	6,928	0,008 sa
7,050	6,940	6,920	0,020 al
7,028	6,898	6,902	0,004 al
7,010	6,910	6,889	0,021 al
6,990	6,850	6,873	0,023 sa
6,980	6,880	6,865	<u>0,015 al</u>
n = 18			M = 0,001 alkalischer s = $\pm$ 0,020

5. Messung 60 Minuten nach Milchsäurezugabe zu
äquiliertem Nabelschnurvenenblut

7,218	7,058	7,055	0,003 al
7,200	7,053	7,040	0,013 al
7,173	7,040	7,018	0,022 al
7,158	7,013	7,006	0,007 al
7,155	7,010	7,004	0,006 al
7,135	7,008	6,988	0,020 al
7,130	6,960	6,984	0,024 sa
7,110	6,970	6,968	0,002 al
7,100	6,940	6,960	0,020 sa
7,100	6,930	6,960	0,030 sa
7,073	6,950	6,938	0,012 al
7,058	6,920	6,926	0,006 sa
7,038	6,935	6,911	0,024 al
7,010	6,870	6,889	0,019 sa
7,005	6,870	6,885	0,015 sa
6,980	6,830	6,865	0,035 sa
6,950	6,840	6,841	<u>0,001 sa</u>
n = 17			M = 0,002 saurer s = $\pm$ 0,018

6. Messung 5 Minuten nach Natriumbikarbonatzugabe zum
30 min zuvor mit Milchsäure angesäuertem nicht äquili-
briertem Nabelschnurvenenblut.

I	II	III	IV
7,490	7,250	7,271	0,021 saurer
7,455	7,210	7,243	0,033 sa
7,410	7,150	7,207	0,057 sa
7,395	7,150	7,195	0,045 sa
7,380	7,180	7,183	0,003 sa
7,360	7,110	7,167	0,057 sa
7,350	7,110	7,159	0,049 sa
7,290	7,050	7,111	0,060 sa
7,289	7,100	7,110	0,010 sa
7,278	7,070	7,102	0,032 sa
7,275	7,080	7,099	0,019 sa
7,260	7,070	7,088	0,016 sa
7,260	7,050	7,088	0,038 sa
7,258	7,037	7,086	0,049 sa
7,246	7,048	7,077	0,029 sa
7,225	7,055	7,060	0,005 sa
7,150	6,970	7,000	0,030 sa
7,140	6,970	6,992	0,022 sa
7,130	6,970	6,984	0,014 sa
7,070	6,920	6,936	<u>0,016 sa</u>
n = 20			M = 0,030 saurer s = $\pm$ 0,017

7. Messung 60 Minuten nach Natriumbikarbonatzugabe zum
30 min zuvor mit Milchsäure angesäuertem nicht äquili-
briertem Nabelschnurvenenblut.

I	II	III	IV
7,550	7,300	7,318	0,018 saurer
7,430	7,190	7,223	0,033 sa
7,430	7,220	7,223	0,003 sa
7,420	7,140	7,215	0,075 sa
7,355	7,145	7,163	0,018 sa
7,350	7,120	7,159	0,039 sa
7,340	7,140	7,150	0,011 sa
7,320	7,100	7,135	0,035 sa
7,295	7,090	6,115	0,025 sa
7,270	7,040	7,095	0,055 sa
7,269	6,970	7,094	0,024 sa
7,262	7,078	7,090	0,012 sa
7,262	7,070	7,090	0,020 sa
7,242	7,030	7,074	0,044 sa
7,240	7,010	7,072	0,062 sa
7,230	7,050	7,064	0,014 sa
7,220	7,000	7,056	0,056 sa
7,210	7,035	7,048	0,013 sa
7,140	6,945	6,992	0,047 sa
7,080	6,910	6,944	<u>0,034 sa</u>
n = 20			M = 0,032 saurer s = $\pm$ 0,019

8. Messung 5 Minuten nach Trispufferzugabe zum 30 min zuvor mit Milchsäure angesäuertem nicht äquilibriertem Nabelschnurvenenblut.

I	II	III	IV
7,550	7,358	7,318	0,040 alkalischer
7,549	7,368	7,317	0,051 al
7,540	7,325	7,310	0,015 al
7,531	7,335	7,303	0,032 al
7,531	7,318	7,303	0,015 al
7,510	7,310	7,287	0,023 al
7,500	7,320	7,279	0,041 al
7,500	7,290	7,279	0,011 al
7,380	7,220	7,183	0,037 al
7,370	7,210	7,175	0,035 al
7,360	7,160	7,167	0,007 saurer
7,335	7,190	7,147	0,043 al
7,335	7,170	7,145	0,025 al
7,300	7,155	7,119	0,036 al
7,280	7,140	7,104	0,036 al
7,280	7,090	7,104	0,014 sa
7,262	7,132	7,090	0,042 al
7,220	7,050	7,056	0,006 sa
7,220	7,070	7,056	0,014 al
7,190	7,040	7,032	<u>0,008 al</u>

n = 20

M = 0,024 alkalischer
s = $\pm$ 0,018

9. Messung 60 Minuten nach Trispufferzugabe zum 30 min zuvor mit Milchsäure angesäuertem nicht äquilibriertem Nabelschnurvenenblut.

7,575	7,400	7,338	0,062 al
7,570	7,415	7,344	0,071 al
7,570	7,370	7,334	0,036 al
7,530	7,340	7,302	0,038 al
7,509	7,315	7,286	0,029 al
7,491	7,331	7,272	0,059 al
7,473	7,300	7,258	0,042 al
7,470	7,293	7,255	0,038 al
7,450	7,290	7,239	0,051 al
7,450	7,270	7,239	0,031 al
7,440	7,270	7,310	0,039 al
7,355	7,205	7,163	0,052 al
7,315	7,160	7,131	0,029 al
7,310	7,160	7,127	0,033 al
7,270	7,130	7,095	0,035 al
7,265	7,130	7,092	0,038 al
7,258	7,110	7,086	0,024 al
7,230	7,110	7,064	0,046 al
7,180	7,060	7,024	0,036 al
7,175	7,030	7,020	<u>0,010 al</u>

n = 20

M = 0,040 alkalischer
s = $\pm$ 0,014

Die Berechnung auf Signifikanz der Differenzen der Mittelwerte erfolgte mit dem t-Test nach Student (13).

$$\text{Wobei } t = \frac{M_1 - M_2}{s_{\text{diff}}} \text{ und } s_{\text{diff}}^2 = \frac{n_1 \cdot s_1^2 + n_2 \cdot s_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \cdot \frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}$$

Wird t größer als 2,75, so ist - bei der von uns bestimmten Menge der Einzelmessungen - die Wahrscheinlichkeit p, daß beide Mittelwerte aus der gleichen Stichprobe stammen, kleiner als 1 % und damit die Differenz signifikant.

Wird t kleiner als 2,02, so ist p größer als 5 % und damit die Differenz nicht signifikant.

- a) Nabelschnurvenenblut mit O_2 und 40 mmHg CO_2 äquilibriert und dieses Blut 10 min nach Milchsäurezugabe (Tab. 1 u.3)
 $t = 1,52$, also ist die Differenz nicht signifikant.
- b) Nicht äquilibriertes Nabelschnurvenenblut und dieses Blut 5 min nach $NaHCO_3$ Zugabe (Tab. 2 u. 6).
 $t = 4,42$, also ist die Differenz signifikant.
- c) Nicht äquilibriertes Nabelschnurvenenblut und dieses Blut 5 min nach Trispufferzugabe (Tab. 2 u. 8).
 $t = 4,35$, also ist die Differenz signifikant.
- d) Mittelwerte 5 min und 60 min nach $NaHCO_3$ Zugabe (Tab.6 u.7).
 $t = 0,35$, also ist die Differenz nicht signifikant.
- e) Mittelwerte 5 min und 60 min nach Trispufferzugabe (Tab. 8 u. 9).
 $t = 0,97$, also ist die Differenz nicht signifikant.
- f) Mittelwerte 5 min nach Trispufferzugabe und 5 min nach $NaHCO_3$ Zugabe (Tab. 8 u. 6).
 $t = 9,49$, also ist die Differenz signifikant.
- g) Mittelwerte 10 min und 60 min nach Milchsäurezugabe (Tab. 3 u. 5).
 $t = 0,31$, also ist die Differenz nicht signifikant.

I. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Bartels, H., E. Bücherl, C.W. Hertz, G. Rodewald
und M. Schwab: Lungenfunktionsprüfungen.
Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg
1959.
2. Bleich, H.L. and W.B. Schwartz: Tris buffer (THAM).
An appraisal of its physiologic effects
and clinical usefulness.
New Engl. J.Med. 274, 782-787 (1966).
3. Bohr, C., K. Hasselbalch und A. Krogh: Über einen
in biologischer Beziehung wichtigen Ein-
fluß, den die Kohlensäurespannung auf
dessen Sauerstoffspannung übt.
Skand.Arch.Physiol. 16, 402 (1904).
4. Bromberg, P.A., J. Theodore, E.D. Robin and
W.N. Jensen: Human erythrocyte pH with
special reference to intracellular acido-
sis in hereditary spherocytosis.
J. clin. Invest 41, 1349 (1962).
5. Bubnoff, M. von und G. Riecker: Über die intra-
zelluläre Wasserstoffionenkonzentration
und das intra- und extrazelluläre Reak-
tionsgefälle. Untersuchungen an Erythro-
zyten.
Klin. Wschr. 39, 23-28 (1961).
6. Davson, H.: Growth on the concept of the
paucimolecular membrane.
Circulation 26, 1022-1037 (1962).
7. Dawes, G.S., E. Hibbard and W.F. Windle: Asphyxia
at birth and brain damage.
J. Physiol. (Lond.) 171, 8-9P (1964).

8. De Coster, A., R. Messin et J.R.M. Francskon:
Répartition de l'acide lactique entre
plasma et globules rouges chez l'homme.
Comparaison des résultats fournis par
differentes méthodes de dosage.
Arch.int.Physiol. 73, 251-258 (1966).
9. Dill, D.B., C. Daly and H. Forbes: The pK' of serum
and red cells.
J.biol. Chem. 117, 569-579 (1937).
10. Dill, D.B., H.T. Edwards and W.V. Consolatio:
Blood as a physicochemical system.
XI. Man at rest.
J. biol. Chem. 118, 635-648 (1937).
11. Ewerbeck, H.: Azidose-Bekämpfung mit THAM-Puffer.
In: Die Übergangsstörung des Neugeborenen
und die Bekämpfung der perinatalen Mortali-
tät.
Thieme, Stuttgart 1965.
12. Fischer, W.M. und W. Toussaint: Über den Säure-Base-
Haushalt beim Neugeborenen.
Arch.Gynäk. 199, 182 (1963).
13. Fröhlich, W.D. Forschungsstatistik.
Bouvier u. Co., Bonn 1959.
14. Gupta, J.M.: The effect of THAM on the oxygen
tension of arterial blood in neonatal
respiratory-distress syndrome.
Lancet 1965/I, 734-735.
15. Hellegers, A.E. and J.J.P. Schrufer: Nomograms
and empirical equations relating oxygen
tension, percentage saturation, and pH
in maternal and fetal Blood.
Amer.J. Obstet. Gynec. 81, 377-384 (1961).

16. Henderson, L.J., D.B. Dill, H.T. Edwards and W.O.P. Morgan: Blood as a physico-chemical system. X. The physicochemical properties of oxygenated human blood. J. biol.Chem. 90, 697-724 (1931).
17. Hilpert, P., R.G. Fleischmann, D. Kempe and H. Bartels: The Bohr effect related to blood and erythrocyte pH. Amer.J.Physiol. 205, (2), 337-340 (1963).
18. Holmdahl, M.H. and G.G. Nahas: Volume of distribution of C₁₄ labeled Tris (hydroxymethyl) aminomethane. Amer.J.Physiol. 202, 1011-1014 (1962).
19. James, L.S.: Acidosis of the newborn and its relation to birth asphyxia. Acta paediat. Suppl. 122, 17-28 (1960).
20. James, L.S., I.M. Weisbrodt, C.E. Prince, D.A. Holaday and V. Apgar: The acid-base status of human infants in relation to birth asphyxia and the onset of respiration. J. Pediat.52, 379 (1958).
21. Jarre, W., W. Ketterle und H. Reinwein: Zur Behandlung des Respiratory-Distress Syndrome bei Frühgeborenen mit THAM und Netzmittel. Helv.paediat.Acta 20, 27-39 (1965).
22. Kubli, F.: Die Diagnose der intrauterinen Asphyxie. Habilitationsschrift. Frankfurt 1965.

23. Laué, D.: Ein neues Tonometer zur raschen Äquilibriumierung von Blut mit verschiedenen Gasdrucken.
Pflügers Arch.ges.Physiol. 254, 142 (1951).
24. Leeson, D. and E.B. Reeve: The plasma in the packed cell column of the haematocrit.
J. Physiol. (Lond.) 115, 129-142 (1951).
25. Loeschke, H.H. zit. nach: Schwab, M.: Zur Behandlung des Lungenemphysems mit chronischer respiratorischer Acidose.
Klin. Wschr. 35, 157-165, 1957.
26. Marchi und Rossi zit. nach: Roughton, F.J.W.: Handbook of Physiology, Section 3: Respiration.Vol. 1, 777.
American Physiological Society, Washington, D.C. 1964.
27. Nahas, G.G.: The use of buffers in the management of respiratory failure.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 121, 871-882 (1965).
28. Omachi, A., R.J. Macey and J.G. Waldeck: Permeability of cell membranes to amine buffers and their effects on electrolyte transport.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 92, 478-485 (1961).
29. Passow, H.: Biochemie des aktiven Transports.
Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1961.
30. Pranker, T.A.J.: The red cell.
Blackwell Scientific Publications, Oxford 1961.

31. Purcell, M.K., G.M. Still, T. Rodman and
H.P. Close: Determination of the pH
of hemolysed packed red cells from
arterial blood.
Clin. Chem. 7, 536-541 (1961).
32. Riecker, G.: Kationenverteilung an Erythrozyten
bei Azidose.
Klin. Wschr. 41, 185 (1963).
33. Robin, E.D., R.J. Wilson and P.A. Bromberg:
Intracellular acid-base relations and
intracellular buffers.
Ann.N.Y.Acad. Sci. 92, 539-546 (1961).
34. Saling, E.: Diskussionsbemerkung in: Ewerbeck, H.:
Die Übergangsstörungen des Neugeborenen
und die Bekämpfung der perinatalen Mor-
talität.
Thieme, Stuttgart 1965.
35. Saling, E.: Das Kind im Bereich der Geburts-
hilfe.
Thieme, Stuttgart 1966.
36. Tullis, J.L.: The red blood cell.
Academic Press, New York and London, 1964.
37. Usher, R.H.: Management of metabolic changes
in the respiratory distress syndrome
of prematurity.
Amer.J.Dis. Child. 100, 485-486 (1960).
38. Wilbrandt, W.: Die Abhängigkeit der Ionenper-
meabilität der Erythrozyten vom glyko-
lytischen Stoffwechsel.
Pflügers Arch.ges.Physiol. 243, 519 (1940).
39. Surgenor, D.M. The red blood cell.
Akademic Press, New York and London, 1964.

Herrn Professor Dr. med Erich S a l i n g
bin ich für die Überlassung des Themas und
für seine Anregungen bei der Anfertigung der
vorliegenden Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

L e b e n s l a u f

Am 23.3.1939 wurde ich als Sohn des Ingenieurs Karl Kegel und seiner Ehefrau Käte geb. Gürgens in Berlin-Köpenick geboren. Im Februar 1945 zogen wir von Berlin nach Norden in Ostfriesland. Dort besuchte ich vom Herbst 1945 die Volksschule und ab 21.4.1950 das Ulrichsgymnasium, das ich am 19.2.1959 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Nach 6 Monaten Praktikum auf der Staatswerft in Emden und in der Norder Eisenhütte, studierte ich im Wintersemester 1959/60 und im Sommersemester 1960 Maschinenbau an der Technischen Hochschule in Karlsruhe. Vom Wintersemester 1960/61 ab studierte ich Medizin an der Universität in Würzburg. Dort legte ich am 25.10.1963 die ärztliche Vorprüfung ab. Vom Sommersemester 1964 bis Wintersemester 1966/67 studierte ich an der Freien Universität Berlin. Am 6.9.1967 beendete ich das Staatsexamen in Berlin.

Vom 1.10.1967 bis 31.1.1968 arbeitete ich als Medizinalassistent auf der Chirurgischen Abteilung des Städt. Krankenhauses Neukölln, vom 1.2.1968 bis 31.7.1968 auf der Inneren Abteilung des DRK-Krankenhauses Jungfernheide und seit dem 1.9.1968 an der Frauenklinik des Städt. Krankenhauses am Mariendorfer Weg.

